

SOCIEDAD ARGENTINA DE BOTANICA



Conferencias sobre aspectos
metodológicos en algas

Agosto
1999

DIATOMEAS TOXÍGENAS. MORFOLOGÍA, DISTRIBUCIÓN Y NOMENCLATURA DE LAS ESPECIES PRESENTES EN ARGENTINA

Eugenia A. Sar

Departamento Científico Ficología, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Paseo del Bosque s/n, 1900 La Plata. e-mail: easar@isis.unlp.edu.ar

El fitoplancton representa la principal entrada de energía al ecosistema marino y constituye el primer eslabón de cadenas tróficas en cuyos extremos se encuentran especies de interés económico.

En la mayoría de los casos los blooms o floraciones algales (convencionalmente un millón de células de la especie dominante por litro) son benéficas para el resto de las comunidades del ecosistema marino. Según Hallegraeff (1993) de las alrededor de 5000 especies fitoplanctónicas marinas unas 300 son productoras de floraciones y producen discoloraciones a las que genéricamente se llama "mareas rojas". De ellas unas 40 especies son capaces de producir potentes toxinas que pueden afectar a peces, otros organismos marinos y al hombre. Para circunscribir al grupo que nos ocupa, existen 8 especies de diatomeas que han sido citadas como eventuales productores de la toxina a la que se denomina **ácido domoico**.

Las especies productoras de esta neurotoxina son las siguientes:

Pseudo-nitzschia multiseries (Hasle) Hasle, Subba Rao *et al.* (1988).

Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima (Hasle) Hasle, Martin *et al.* (1990).

Pseudo-nitzschia australis Frenguelli, Buck *et al.* (1992); Fritz *et al.* (1992).

Pseudo-nitzschia delicatissima (Cleve) Heiden, Smith *et al.* (1991).

Pseudo-nitzschia seriata (Cleve) Peragallo, Lundholm *et al.* (1994).

Pseudo-nitzschia pungens (Grunow ex Cleve) Hasle, Rhodes *et al.* (1996).

Pseudo-nitzschia turgidula (Hustedt) Hasle, Rhodes *et al.* (1996)

Amphora coffeaeformis (Agardh) Kützinger, Shimizu *et al.* (1989) y Maranda *et al.* (1990).

El primer episodio de intoxicación masiva, que costó la vida a 3 personas y produjo síntomas de intoxicación aguda a otras 105, ocurrió en diciembre de 1987 en la Isla Prince Edward, Canadá. En todos los casos la enfermedad estuvo asociada al consumo de mitilidos y por los síntomas de los pacientes intoxicados se determinó tempranamente que la intoxicación no era

causada por PSP o DSP, es decir que los síndromes no eran ni envenenamiento paralizante de moluscos, ni envenenamiento diarreico de moluscos.

Los síntomas que presentaron los pacientes durante aquel episodio fueron:

- **gastrointestinales:** náusea, vómito, dolor de cabeza, diarrea, dolor abdominal y calambre abdominal.
- **neurológicos:** confusión, desorientación, pérdida de memoria del corto plazo que puede persistir indefinidamente según Debonnel *et al.* (1988).

En vista de las características de la sintomatología este síndrome clínico recibió el nombre de envenenamiento amnésico de moluscos ASP.

El análisis de los mitílidos permitió detectar **ácido domoico**, que para esa fecha sólo había sido encontrado en relación con *Chondria armata* Okamura (Takemoto & Daigo, 1958, 1960), *Alsidium corallinum* C. Agardh (Impellizzeri *et al.*, 1975) y *Chondria baileyana* (Montagne) Harvey (Edelstein *et al.*, 1974).

La investigación de ejemplares de herbario de *Chondria baileyana* sugirió la idea de que esta especie podía ser la responsable del episodio. No obstante esa hipótesis fue sustentada por poco tiempo. Los mitílidos acumulan toxinas del fitoplancton, que es su fuente de alimento, y en diciembre había sucedido en Prince Edward una floración algal. Extractos de plancton colectado en ese momento fueron inyectados a ratones y produjeron síntomas similares a los que provocaban los extractos de mitílidos contaminados. Esto llevó a los investigadores comprometidos con la pesquisa del episodio a la hipótesis de que la especie dominante en aquella floración era la productora de la neurotoxina e investigaron la producción de ácido domoico *in vitro* a partir de cultivos unialgales de dicha especie, identificada en aquel momento como *Nitzschia pungens* f. *multiseries* Hasle, hoy denominada *Pseudo-nitzschia multiseries* (Hasle) Hasle.

Durante la floración de referencia, *Pseudo-nitzschia multiseries* (Hasle) Hasle alcanzó concentraciones de $15 \times 10^6 \text{ cel} \cdot \text{l}^{-1}$ y la concentración de **ácido domoico** osciló entre **3000 y 12000 μg de AD \cdot g de peso húmedo de fitoplancton**. La concentración de ácido domoico por célula fue de alrededor de **1 a 6 pg de AD \cdot cel $^{-1}$** y el decrecimiento de la concentración de ácido domoico acompañó al decrecimiento de la población de *Pseudo-nitzschia multiseries* en la taxocenosis.

El estudio de esta especie en cultivo, permitió determinar que producen la toxina durante la fase estacionaria del cultivo (más de 40 días después de iniciados).

Como resultado de las investigaciones realizadas en vinculación con este episodio quedó establecido que *Pseudo-nitzschia multiseries* (Hasle) Hasle era productora de ácido domoico y que los organismos transvectores de la toxina eran mitílidos. A posteriori de este primer

episodio se produjeron floraciones otoñales de *Pseudo-nitzschia multiseries* durante tres años consecutivos. Sin embargo en función de la puesta en marcha de un programa de monitoreo para ácido domoico se previno la reiteración de intoxicaciones de humanos.

Martin *et al.* (1990, 1993) reportaron floraciones tóxicas relacionadas con la presencia en el plancton de *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* en la Bahía Fundy. En este caso no hubo intoxicados y las concentraciones de ácido domoico fueron de 0.7 a 3.9 μg de AD \cdot g de peso húmedo de fitoplancton.

Otro episodio de floración de *Pseudo-nitzschia australis* fue asociado a la mortalidad masiva de cormoranes y pelicanos en Bahía Monterrey durante 1991 (Buck *et al.*, 1992). Las concentraciones de toxina alcanzadas fueron del orden de 3 a 31 $\text{pg} \cdot \text{cel}^{-1}$.

Ulteriores investigaciones sobre cultivos unialgales de varias especies de *Pseudo-nitzschia*, realizadas con el propósito de detectar la producción de ácido domoico, arrojaron resultados positivos en algunos casos. Así ha quedado establecido por:

Smith *et al.* (1991) que *Pseudo-nitzschia delicatissima* produce 0.005 pg de AD $\cdot \text{cel}^{-1}$.

Lundholm *et al.* (1994) que *Pseudo-nitzschia seriata* produce 0.31 a 33.8 pg de AD $\cdot \text{cel}^{-1}$.

Rhodes *et al.* (1996) que *Pseudo-nitzschia pungens* produce 4.70 pg de AD $\cdot \text{cel}^{-1}$.

Rhodes *et al.* (1996) que *Pseudo-nitzschia turgidula* produce 0.033 pg de AD $\cdot \text{cel}^{-1}$.

Finalmente Maranda *et al.* (1990) determinaron que *Amphora coffeaeformis* produce trazas de ácido domoico, 0.22 pg de AD $\cdot \text{cel}^{-1}$, en cultivo de clones aislados en Prince Edward al momento del primer episodio referido.

El ácido domoico es un aminoácido que no puede destruirse en el alimento ni por cocción ni por congelamiento, es inodoro e insípido, por lo que no puede ser detectado excepto por test de laboratorio y como veneno, carece de antídoto.

Los síntomas de envenenamiento pueden sobrevenir entre los 30 minutos y las 24 horas luego del consumo de moluscos. Esta toxina que es agonista del receptor glutamato, tiene propiedades neurotóxicas sobre el sistema nervioso central de vertebrados.

La toxina se puede detectar por ensayo ratón ya que la sintomatología que provoca respecto del PSP y del DSP es muy diferente, sin embargo puede no detectarse ácido domoico si hay altas concentraciones de PSP porque esta toxina produce muerte en plazos más breves. Cabe señalar que la aplicación de este método es sanitariamente inadecuada ya que se requieren 40 μg de AD

g^{-1} de carne de molusco para inducir síntomas en un ratón y $150 \mu\text{g}$ de AD g^{-1} para obtener tiempos de muerte reproducibles y el límite legal establecido como admisible por organismos de contralor de salud internacionales, a raíz de la experiencia canadiense, es de $20 \mu\text{g}$ de AD g^{-1} , de modo que este ensayo detecta la toxina cuando su concentración es del doble de la aceptada.

Dado que el límite de detección de la toxina por ensayo ratón es inapropiado, es evidente entonces que para realizar un monitoreo adecuado de esta toxina debe emplearse cromatografía líquida de alta presión (HPLC).

El género *Pseudo-nitzschia* incluye al presente 21 especies y una forma marinas. Varias de las especies tóxicas fueron citadas para la costa Argentina. Cuando nosotros decidimos vincularnos con el tema hallamos que algunas de las citas eran fehacientes, tal el caso de *Pseudo-nitzschia australis* Frenguelli (1939) descripta sobre material proveniente del Golfo San Matías y *Pseudo-nitzschia multiseriata* (Hasle) Hasle (1965) descripta bajo el nombre de *Nitzschia pungens* var. *multiseriata* Hasle sobre la base de material de Pto. Quequén y otras localidades.

Pseudo-nitzschia delicatissima fue reportada bajo el nombre de *Nitzschia delicatissima* por Carreto *et al.* (1974) y Verona *et al.* (1974) y *Pseudo-nitzschia pungens* fue reportada por Balech (1976) y por Lange (1985), no habiéndose empleado en ninguno de los casos microscopía electrónica para realizar las determinaciones.

Pseudo-nitzschia seriata, considerada al presente como una especie exclusiva del hemisferio norte según Hasle (1965, 1972) fue erróneamente reportada en numerosas ocasiones para diversos puntos de nuestras costas, como consta en Ferrario & Galván (1989) y como en los casos anteriores las determinaciones se realizaron con microscopio óptico.

Pseudo-nitzschia turgidula fue citada por primera vez por Negri & Inza (1998), junto con *Pseudo-nitzschia pungens*, *Pseudo-nitzschia australis* y *Pseudo-nitzschia* cf. *pseudodelicatissima* para la costa y plataforma de la Provincia de Buenos Aires. Estos autores determinaron sus especies con microscopía electrónica aunque no presentan ilustraciones en su publicación. Teniendo en cuenta las sutiles diferencias que existen entre los taxa del grupo *P. delicatissima* y del grupo *P. seriata* y considerando que las determinaciones fueron hechas invariablemente con microscopio de luz, consideramos que una investigación de las especies del género *Pseudo-nitzschia* en aguas costeras argentinas era necesaria.

Con esta idea en mente presentamos a la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires un Proyecto de monitoreo de diatomeas productoras de neurotoxinas que fue acordado y declarado plan prioritario de la Provincia de Buenos Aires.

A partir de 1994 iniciamos el proyecto en la Provincia de Buenos Aires y el año pasado lo extendimos a las Provincias de Río Negro y Chubut. Como

resultado de esta labor realizamos un trabajo titulado "Potentially toxic species of the genus *Pseudo-nitzschia* in Argentinian coastal waters". M.E. Ferrario, E.A. Sar, C. Castaños & F. Hinz. En prensa en Nova Hedwigia. En este trabajo se describen e ilustran *Pseudo-nitzschia pungens*, *Pseudo-nitzschia multiseries*, *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* y *Pseudo-nitzschia australis*, morfología, distribución en la costa, datos de temperatura y salinidad bajo los cuales fueron encontradas y su distribución temporo-espacial a lo largo de la costa de Buenos Aires.

Amphora coffeaeformis fue citada para varios sitios de Argentina con muy diversas características ambientales. Ferrario & Sar (1985) la citan para el litoral marítimo, Maidana (1994a) para una salina, Maidana & Romero (1995) para una laguna salobre, Frenguelli (1923-24) y Maidana (1994 b and c) para cuerpos de agua dulce lénticos y lóticos y Lacoste *et al.* (1983) para aguas termales. La diversidad de ambientes en que fue encontrada nos llevó a dudar sobre la exactitud de estas identificaciones. El análisis de la literatura clásica nos puso, por otro lado, frente al hecho de que hay, además, diferentes conceptos de *A. coffeaeformis* y de que varios taxones similares en contorno valvar y parámetros morfométricos han sido confundidos con esta especie. Archibald & Schoeman (1984) establecieron una descripción precisa del taxón sobre la base del estudio de los materiales tipo al microscopio óptico y electrónico esclareciendo numerosos problemas taxonómicos.

Vistas las dudas que las citas presentan en función de la diversidad de ambientes a que corresponden y la confusión respecto de la identidad de *A. coffeaeformis* en la literatura nos planteamos como objetivo, en el marco del mencionado proyecto de monitoreo de diatomeas toxigénicas, realizar el análisis crítico de los materiales correspondientes a las citas de la especie, comparándolos con las fotografías del material tipo y de los materiales sobre los cuales se determinó la producción de la toxina (clon BPT 11). Este estudio corrobora lo establecido por Archibald & Schoeman (1984) acerca de la dificultad para diferenciar a *A. coffeaeformis* de sus taxones más allegados. Sobre esta base y tomando en cuenta que esta especie fue mencionada como productora de ácido domoico (Maranda *et al.* 1990) consideramos necesario confirmar la identificación de estos autores y comparar sus materiales con los de Argentina. A partir de los resultados obtenidos podemos señalar que esta identificación es dudosa, lo que genera un problema adicional al estrictamente taxonómico, que es saber con certeza cual es el organismo productor de la ficotoxina.

Esta información fue organizada en un trabajo titulado "Review of the materials recorded as *Amphora coffeaeformis* (Agardh) Kützinger in Argentina" Sala S.E., E. A. Sar & M.E. Ferrario. Diatom Research 13(2): 323-326.